

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-255657

(43)Date of publication of application : 21.09.1999

(51)Int.Cl.

A61K 31/715  
A61K 31/715  
A61K 7/00  
A61K 7/48  
C08B 37/02  
// A61K 35/78

(21)Application number : 10-061287

(71)Applicant : Q P CORP

(22)Date of filing : 12.03.1998

(72)Inventor : YAMADA ARISA  
HIRAMATSU HAJIME

(54) AGENT FOR PROLIFERATING FIBROBLAST AND SKIN PREPARATION USED FOR EXTERNAL USE AND CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain the subject preparation for external use, useful for cosmetics, etc., and having excellent safety and effects for proliferating fibroblast and for improving the aging symptom of the human skin by using phyto glycogen as an active ingredient.

**SOLUTION:** This preparation for external use contains phyto glycogen as an active ingredient. Therein, the phyto glycogen is preferably obtained by crushing vegetable tissues containing the phyto glycogen, such as the seeds of sweet corn, extracting the crushed vegetable tissues with pure water in an amount of 3-20 times that of the crushed vegetable tissues, removing starch, etc., subjecting the obtained extraction solution to a thermal treatment, etc., to remove protein, and finally adding an organic solvent such as methanol to the treated solution to precipitate the phyto glycogen. The content of the phyto glycogen in the preparation for external use is preferably 0.001-5%.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-255657

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月21日

(51) Int.Cl.<sup>6</sup>

A 6 1 K 31/715

7/00

識別記号

A E D

A D A

F I

A 6 1 K 31/715

7/00

A E D

A D A

J

K

W

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 4 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平10-61287

(22) 出願日

平成10年(1998) 3月12日

(71) 出願人 000001421

キューピー株式会社

東京都渋谷区渋谷 1 丁目 4 番 13 号

(72) 発明者 山田 有砂

東京都府中市住吉町 5 丁目 13 番地の 1 キ

ューピー株式会社研究所内

(72) 発明者 平松 肇

東京都府中市住吉町 5 丁目 13 番地の 1 キ

ューピー株式会社研究所内

(54) 【発明の名称】 線維芽細胞増殖剤及びこれを配合した皮膚外用剤

(57) 【要約】

【課題】 安全性に優れた線維芽細胞増殖剤を提供する。

【解決手段】 フィトグリコーゲンを有効成分として含有することを特徴とする。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 フィトグリコーゲンを有効成分として含有することを特徴とする線維芽細胞増殖剤。

【請求項2】 請求項1記載の線維芽細胞増殖剤を配合することを特徴とする皮膚外用剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、フィトグリコーゲンを有効成分とした新規な線維芽細胞増殖剤及びこれを配合した皮膚外用剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】フィトグリコーゲンとは、動物の細胞内、特に肝臓や筋肉に多く存在するグリコーゲンと基本構造が同じである植物由来の冷水可溶性貯蔵多糖類であり、 $\alpha$ -1, 4結合からなるグルコース鎖が $\alpha$ -1, 6結合で高度に枝分かれした構造をしている。そのため、皮膚外用剤において、その構造を活かし保湿剤として配合することが従来より提案されている（特開昭62-178505、特開昭63-290809）。しかしながら、フィトグリコーゲンの線維芽細胞増殖効果に関して

は未だ何ら報告されていない。

【0003】一方、線維芽細胞は、皮膚内の膠原線維、弾力線維、基質を産出し、皮膚の老化と密接な関係を有している。そのため、近年、皮膚外用剤の分野において、線維芽細胞の増殖効果を有する物質を配合し、皮膚の機能そのものを活性化して、皮膚の老化症状の改善を図る試みがなされている。このような物質としては、臓器由来の水溶性蛋白や牛胎盤エキスを知られている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、臓器由来の水溶性蛋白は、蛋白質であるため、感作性で問題があり、一方、牛胎盤エキスにおいては、牛由来のものであるため、「狂牛病」の問題から安全性で疑問視されおり、安全性に優れた線維芽細胞増殖剤が切望されている。そこで、本発明の目的は、安全性に優れた線維芽細胞増殖剤を提供することを目的とする。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、前記の目的を達成すべく安全性に優れた種々の多糖類について鋭意研究を重ねた結果、フィトグリコーゲンに線維芽細胞増殖効果を有することを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、（1）フィトグリコーゲンを有効成分として含有した線維芽細胞増殖剤、（2）（1）の線維芽細胞増殖剤を配合した皮膚外用剤、を提供するものである。

## 【0006】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。尚、本発明において「%」はすべて「重量%」である。本発明において「フィトグリコーゲン」とは、前述したとおり、動物の肝臓や筋肉に多く存在するグリコーゲン

と基本構造が同じである植物由来の冷水可溶性貯蔵多糖類である。フィトグリコーゲンの供給源としては、植物由来であれば特に限定するものでないが、例えば、トウモロコシ、大麦、米等の種子が挙げられる。その中でも、スイートコーンの種実は他の植物に比較し、フィトグリコーゲンを高濃度含有していることから、供給源として好ましい。

【0007】本発明で用いるフィトグリコーゲンの抽出・精製方法は特に制限はなく、任意の方法を採用することができる。一般的な調製方法を示すと、フィトグリコーゲンを含有する植物組織を粉碎等により抽出しやすい状態とした後、植物組織の固形分に対し3〜20倍量の清水を加え水抽出し、デンプン、蛋白質、その他の不溶物を遠心分離等で除去する。得られた抽出液を加熱処理および／またはトリクロロ酢酸等で処理し蛋白質を除去した後、この処理液にメタノール、エタノール、アセトン等の有機溶剤を添加しフィトグリコーゲンを沈殿させる。尚、沈殿の際の有機溶剤の濃度は、溶剤により異なるが、例えば、メタノールやエタノールのようなアルコールの場合は60容量%以上、アセトンの場合は50容量%以上とするのが好ましい。この濃度より低い場合は、フィトグリコーゲンの一部あるいは全部が溶解した状態となるため、収率が低減し好ましくない。次に、回収した沈殿物をメタノール、エタノール、アセトン、ジエチルエーテル等の有機溶剤で洗浄した後、乾燥し粉末状のフィトグリコーゲンを得る。

【0008】本発明の線維芽細胞増殖剤は、上述の方法等により得られたフィトグリコーゲンをそのまま用いても良いし、さらに必要に応じ賦形剤等を加配しても良い。

【0009】また、線維芽細胞増殖剤の皮膚外用剤への配合量は、皮膚外用剤中フィトグリコーゲンが0.001〜5%、特に、0.01〜2%配合することが好ましい。その配合量が少な過ぎると皮膚の老化防止や改善効果が発揮されにくく、一方、あまり多し過ぎても一定の効果以上は期待できないからである。

【0010】本発明において「皮膚外用剤」とは、頭皮を含めた皮膚表面に用いるもので、例えば、化粧水、乳液、クリーム、養毛剤、育毛剤、パック、口紅、リップクリーム、ファンデーション、ションプー、リンス、トリートメント、浴用剤等が挙げられる。

【0011】次に、本発明を実施例・試験例に基づき、さらに詳細に説明する。尚、本発明は、これら実施例・試験例に制約されるものではない。

## 【実施例】実施例1

新鮮なスイートコーン種実1kgを粉碎機（商品名「ROBOT-COUPÉ CUTTING MIXER R-551」、ティー・ケー・食品機械（株）扱い）で粉碎し、この粉碎物に1kgの清水を加え混合後、200メッシュストレーナーで濾過する。得られた濾液を遠心分離機（商品名「高速冷却遠心

機 KR-20000S」、(株)久保田製作所製)で8500rpmで5分間遠心分離し、デンプン、蛋白質、その他の不溶物を除去した。上清を濾紙で濾過後、95℃で20分間加熱し、冷却後、5000rpmで5分間遠心分離し凝固した蛋白質を除去した。上清を4℃に冷却して、これに5%になるまでトリクロロ酢酸を加え、4℃で一晩放置したのち、5000rpmで5分間遠心分離し沈\*

#### 実施例2

##### <処方>

(1) 流動パラフィン	15.0%
(2) セタノール	2.0%
(3) ステアリルアルコール	5.0%
(4) ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	5.0%
(5) 実施例1の線維芽細胞増殖剤	1.0%
(6) プロピレングリコール	5.0%
(7) パラオキシ安息香酸メチル	0.1%
(8) 香料	0.2%
(9) 精製水	66.7%

<製造方法>(1)～(4)の油相成分を混合・溶解して均一とし、75℃に加熱した。一方、(5)～(7)及び(9)の水相成分を混合・溶解して75℃に加熱した。次いで上記水相成分に油相成分を添加して予備乳化した後、ホモミキサーにて均一に乳化した。その後冷却し、50℃にて(8)を添加・混合し、実施例1の線維芽細胞増殖剤を配合した皮膚用クリームを得た。

#### 【0013】

##### 【試験例】試験例1(線維芽細胞増殖試験)

##### <試験方法>

##### A. 線維芽細胞増殖剤のウェルへのコート

実施例1で得られた線維芽細胞増殖剤を蒸留水で溶解し、孔径0.22μmのメンブレンフィルターで濾過した後、浮遊培養用ウェル(商品名「浮遊培養用96穴マルチプレート」、住友ベークライト(株)製)に線維芽細胞増殖剤のコート量が固形物として100μg/cm<sup>2</sup>となるように添加し、クリーンベンチ内で無菌的に風乾させた。

##### 【0014】B. 線維芽細胞の培養

ヒト真皮線維芽細胞(商品名「CryoNHDF-Neo、Strain No.4049」、三光純薬(株)製)を10%FBS(牛胎児血清)含有D-MEM培地で1×10<sup>4</sup>セル/mlとなるように分散し、線維芽細胞増殖剤をコートした各ウェルに100μl添加した。次に、これを、37℃、5%CO<sub>2</sub>雰囲気下で培養し、3、5、6日目の細胞数を下記のクリスタルバイオレット法により把握した。尚、線維芽細胞増殖剤をコートしていないウェルを用い上記と同様な方法で培養したものを対照とした。

##### 【0015】C. クリスタルバイオレット法

各ウェルに10容量%ホルムアルデヒド含有PBS

(一)を添加し、30分間静置して細胞を固定した後、培地を除去し、PBS(一)で1回洗浄した。次に、染

\* 殿物を除去し、上清を3倍量のメタノールに注加して生じた沈殿物を5000rpmで5分間の遠心分離で集め、メタノール、エタノール、ジエチルエーテルで順次洗浄したのち真空乾燥し線維芽細胞増殖剤を得た。得られた線維芽細胞増殖剤には、乾物中でフィトグリコーゲンを約95%含有していた。

#### 【0012】

色液である0.4w/v%クリスタルバイオレット含有メタノールを各ウェルに50μl添加し、30分間静置して染色した後、染色液を除去し、蒸留水で洗浄し、2時間程度風乾し、545nmにおける吸光度をウェルリーダーSK-60(株)サイニクス製)で測定し、6ウェルの平均値を求めたところ、表1の結果が得られた。尚、吸光度0.1当たり約2.5×10<sup>3</sup>の細胞数に相当する。

#### 【0016】

##### 【表1】

	3日目	5日目	6日目
本発明品	0.042	0.437	0.558
対照	0.020	0.082	0.217

【0017】表1より、フィトグリコーゲンには線維芽細胞増殖効果を有していることが理解される。

##### 【0018】試験例2(使用効果試験)

##### 試験方法

皮膚の老化症状が顕著に認められる50～60歳の女性20名を1群10名に分け、一方の群には実施例2の線維芽細胞増殖剤を配合した皮膚用クリーム(本発明品)、他方の群には線維芽細胞増殖剤を配合せず実施例2と同様な方法で得た皮膚用クリーム(比較品)をブラインドにて3ヵ月間使用させ、使用前後の皮膚のしわ、きめの変化を写真撮影及び皮膚表面のレプリカにより観察し、改善効果を評価したところ、表2の結果が得られた。尚、改善効果は、「改善」、「やや改善」、「変化なし」の三段階で評価した。

#### 【0019】

##### 【表2】

(4)

特開平11-255657

6

5

項目	評価	本発明品	比較品
しわ	改善	7人	0人
	やや改善	3人	1人
	変化なし	0人	9人
きめ	改善	8人	0人
	やや改善	2人	1人
	変化なし	0人	9人

\*は、皮膚の老化症状の改善に対して、良好な効果を有することが理解される。

【0021】

【発明の効果】以上述べたように本発明において、多糖類であるフィトグリコーゲンに線維芽細胞増殖効果を有することが認められる。これより、安全性に優れた線維芽細胞増殖剤及び皮膚の老化症状の改善に有効な皮膚外用剤を提供することができる。

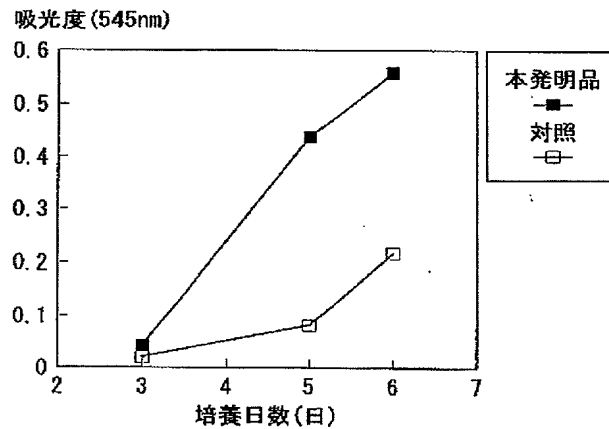
【0022】

10 【図面の簡単な説明】

【図1】試験例1における線維芽細胞の培養日数と細胞数を把握するクリスタルバイオレット法による吸光度との関係を示したものである。

【0020】表2より、フィトグリコーゲンを有効成分として含有した線維芽細胞増殖剤を配合した皮膚外用剤\*

【図1】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>6</sup>

A61K 7/48

C08B 37/02

// A61K 35/78

識別記号

ADS

FI

A61K 7/48

C08B 37/02

A61K 35/78

ADS